云 南 植 物 研 究 1991；13 (3)：297—302
Acta Botanica Yunnanica

七筋姑的大小孢子发生雌雄配子体发育及多糖物质的动态*

袁蓉军 李 平 郑学经
(四川大学生物系，成都 610064)

摘要 七筋姑（*Clintonia udensis* Trautv. et Mey）具倒生胚珠、双珠被、薄珠心、单个孢原。大孢子母细胞减数分裂后形成 1+3 排列，合点端三核退化，珠孔端有功能的大孢子核进行两次有丝分裂。成熟胚囊具 5 核或 6 核，即 1 组卵器、1 上极核、合点端的 1 个或 2 个退化核。胚囊发育为四孢子、高度退化的贝母型。花药壁由表皮、药室内壁、两层中间层及绒毡层组成，发育属单子叶型。绒毡层解体方式为分泌型。小孢子母细胞减数分裂时胞质分裂为连续型。二轴对称式四分体，2–细胞成熟花粉粒。组织化学表明：大小孢子发生及雌雄配子体形成过程中的不溶性多糖颗粒的分布呈现规律性变化。

关键词 七筋姑；大孢子；小孢子；雌配子体；雄配子体

MEGA–MICROSPOROGENESIS AND MEGA–MICROGAMETOGENESIS AND CHANGES IN POLYSACCHARIDES IN CLINTONIA UDENSIS

YUAN Rong–Jun, LI Ping, ZHENG Xue–Jing
(*Departaent of Biology, Sichuan University,* Chengdu 610064)

Abstract In *Clintonia udensis* Trautv. et Mey, the ovule is of anatropous type, having two integuments. The nucellus is tenuinucellate with unicellular archesporium derived from the hypodermal cell at the tip of the young nucellus acting directly as the megaspore mother cell. The division of the megaspore mother cell results in 1+3 arrangement, the three nuclei in the chalazal end degenerate and fuse in various ways. The nucleus of the functional micropylar megaspore divides twice. The mature embryo sac contains 5 or 6 nuclei, including 1 egg, 2 synergids, 1 polar nucleus and 1 or 2 abortive nuclei at the chalazal end. The pattern of the embryo sac development belongs to the tetrosporic highly reduced *Fritillaria* type. The anther wall consists of the epidermis, the endothecium, two middle layers and the glandalar tapetum. The cytokinesis is successive and the tetrad isobilateral. Mature pollen grains are two celled.

1990年5月收稿,1990年9月定稿。
* 国家自然科学基金资助项目。

Histochemical investigation includes the localization of polysaccharides during the mega–microsporogenesis and the mega–microgametogenesis. The accumulation of polysaccharides shows some regular changes.

Key words *Clintonia udensis;* Megaspore; Microspore; Megagamephyte; Microgametophyte

七筋姑隶属百合科(Liliaceae)黄精族(Polygonaceae)，间断分布于东亚和北美，我国仅产1种，即本文实验材料 *Clintonia udensis* Trautv. et Mey。此草全株入药，为民间常用，分布于四川、云南、西藏（南部）、甘肃、陕西、湖北、河南、山西、河北、辽宁、吉林、黑龙江等地[1]。迄今，有关七筋姑属细胞胚胎学国内尚无报道，国外曾报道过七筋姑的胚囊发育[2,3]、染色体组型分析[2]、花柱引导组织[4]以及花粉形态[5]等。这些研究结果表明：七筋姑具基生的、幅射对称排列的叶、从叶丛中抽出的花葶以及发育后期作蒴果状开裂的浆果等特征，与同族其它属比较有明显差异。从胚胎学上看，七筋姑的胚囊发育为四孢子、高度退化的贝母型，百合科中只有郁金香属(*Tulipa*)的少数种具有此种胚囊类型[6]，因此，曾有学者对其所处的系统地位提出疑议[7,2]，但因各方面的资料缺乏，尚不能确定。作者试图通过对七筋姑胚胎学的研究，为其生物生殖学及系统地位的研究提供资料。

材料和方法

研究材料七筋姑(*Clintonia udensis* Trautv. et Mey)大部分采自四川峨嵋山，少部分取自四川九寨沟，固定于 Carnoy's、Nawaschin's III 固定液中，按常规石蜡制片法制片，切片厚度为5—8 μm。用铁明矾–苏木精–苦味酸方法[8]，PAS+苏木精染色法[9]。

观察结果

1. 大孢子、雌配子体发育过程的观察

(*1*) *胚珠形态*　七筋姑的成熟胚珠为倒生型，两层珠被。珠孔仅由内珠被形成。珠心属于薄珠心型。

(*2*) *孢原细胞及大孢子母细胞*　孢原细胞位于幼胚珠顶端一层珠心表皮下，细胞体积大，细胞质浓厚（图版I: 1)。每个胚珠中仅分化出1个孢原。孢原细胞经一段时间的生长，直接起大孢子母细胞的作用。大孢子母细胞细胞质浓厚，很快进入减数分裂I前期。染色质集中分布于细胞质的中央，核仁可见（图版I: 2，3，4)。在孢原阶段，胚珠直立，内、外珠被未分化（图版I: 1)。在大孢子母细胞阶段，胚珠向一侧弯曲，内珠被开始分化（图版I: 2，3)，当内、外珠被分化出来后，胚珠变为倒生（图版I: 4)。

(*3*) *大孢子发生*　大孢子母细胞经减数分裂I前期、中期、后期及末期，形成2个子核，其间无细胞壁（图版I: 4—7)。这2子核立即同时进入减数分裂Ⅱ，形成四孢子胚囊。胚囊中的四核呈1+3排列，珠孔端的1个为有功能的大孢子核，合点端的3个核则退化成为染色很深的小球（图版I: 8，9，图版Ⅱ: 10a，b)。四孢子胚囊形成

后，珠孔端的大孢子体积增加很快，胚囊中出现细密小液泡（图版Ⅱ：10a，b），以后，小液泡合并为大液泡，最后形成中央液泡，将有功能的大孢子悬浮于胚囊上部。合点端的3个退化核常有不同程度的合并（图版Ⅱ：11，12）。此时，珠心表皮细胞进行垂周分裂，以适应胚囊体积的增大。珠被继续生长，当减数分裂Ⅰ完成后，内珠被已超过珠心的高度（图版Ⅰ：7），但外珠被仍低于珠心，由内珠被形成珠孔。

(4) *胚囊的形成* 珠孔端有功能的大孢子，进行第一次有丝分裂，形成2个子核（图版Ⅱ：11），不久，这2个子核进入第二次有丝分裂，形成4个子核，位于胚囊中部（图版Ⅱ：12，13），随液泡的增大，4个子核被推至珠孔端。随着发育，珠孔端1核移向中央，成为极核，同时，另3个核之间出现细胞壁，构成了在珠孔端呈品字形排列的3细胞卵器（图版Ⅱ：15a，b），合点端退化核仍存在。

(6) *成熟胚囊的结构* 成熟胚囊为具5核或6核的4细胞胚囊，即卵器、具一个极核和大液泡的中央细胞、合点端的1—2个退化核。助细胞呈梨形，向珠孔端的壁分化出多分枝的帚状丝状器，且助细胞无明显液泡化，这是七筋姑的一个特征（图版Ⅱ：14，15a，16），卵细胞呈球形，随着发育逐渐液泡化，核和细胞质所占体积很小，位于合点端，珠孔端则为一大的液泡（图版Ⅱ：14，15a）。在胚囊成熟过程中，胚囊明显增大，成为一长形结构。

(7) *多糖物质在大孢子发生、雌配子体形成过程中的动态* 在孢原细胞和大孢子母细胞阶段，外珠被中开始积累多糖颗粒，且量多（图版Ⅰ：3，4），随发育的进行，多糖积累不断增加，多糖颗粒的大小和数量从外珠被到内珠被至珠心和胚囊依次递减，呈现出梯度变化（图版Ⅰ：7，8，9，图版Ⅱ：10b，11）。在成熟胚囊阶段，胚囊中积累较多的多糖粒，分布在中央细胞核的周围及卵细胞、助细胞中，其中尤以助细胞中的多糖颗粒最为丰富（图版Ⅱ：14，15a，b）。

2. 小孢子、雄配子体发育过程的观察

(1) *小孢子形成过程* 七筋姑的花药壁由5层细胞构成。即表皮、药室内壁、2层中间层及绒毡层（图版Ⅲ：17）。药壁包围着的小孢子母细胞，经减数分裂Ⅰ各期，形成小孢子二分体（图版Ⅲ：17，18，19），紧接着，此二分体进行第二次分裂，形成小孢子四分体（图版Ⅲ：20）。小孢子母细胞胞质分裂方式为连续型。小孢子四分体为二轴对称式排列。小孢子二分体形成时，花药的表皮、药室内壁细胞都横向延伸，中层细胞退化（图版Ⅲ：18），绒毡层细胞变得极不规则，多核和多倍体核现象很普遍，细胞逐渐液泡化，到小孢子四分体形成时，绒毡层细胞出现退化迹象（图版Ⅲ：18，19，20）。

(2) *雄配子体形成* 包围小孢子四分体的胼胝质壁很快消解，小孢子释放出来。刚释放出的小孢子呈新月形，逐渐地小孢子体积增大，成为椭圆形，壁十分明显，细胞核至细胞边缘（图版Ⅲ：21）。不久，小孢子核进行一次不均等的有丝分裂，形成一个较大的营养细胞及一个较小的生殖细胞（图版Ⅲ：22，23）。

同一花药室内的小孢子分裂不同步（图版Ⅲ：23）。此时，药室内壁细胞径向延长，并在细胞壁上逐渐发生有助于花药开裂的带状加厚。中层逐步解体，在二细胞花粉粒时期，完全消失。绒毡层逐渐退化，最初是壁消失，在花药横切面上，只见一连续的

绒毡层环（图版Ⅲ：21），细胞的径向壁消失。到了成熟雄配子体阶段，绒毡层仅留下残迹。在整个发育过程中，绒毡层始终保持在原来位置上，直至解体，属分泌型绒毡层。成熟花药的壁层仅由表皮和药室内壁组成。

(3) *成熟花粉粒* 刚形成的生殖细胞，紧贴花粉粒壁（图版Ⅲ：23），逐渐向内推移，最后，整个细胞脱离花粉壁，游离于营养细胞的细胞质中（图版Ⅲ：24）。成熟花粉粒为2细胞的，外壁具颗粒状纹饰，具单萌发沟。生殖细胞在花粉管中分裂形成2个精子（图版Ⅲ：25）。

(4) *多糖动态* 在小孢子母细胞减数分裂阶段，表皮和药室内壁中的多糖积累最多，而中层开始退化，无多糖颗粒。从外到内，多糖颗粒数量递减（图版Ⅲ：17）。从小孢子释放到雄配子体形成，表皮和药室内壁中多糖颗粒有减少的趋势，而绒毡层和小孢子内多糖颗粒积累增加。到了成熟花粉粒时期，多糖颗粒几乎全部集中于花粉粒内(图版Ⅲ：24)。

3. 大、小孢子发生，雌雄配子体形成与花外部形态的相关性 见表1。

表1 外部形态与内部雌雄性器官发育的相关性

Table 1 The relativity between the outer morphological characters and the development of the inner male and female sex organs.

阶段 / 种类	I		II	III	IV
	花蕾Ⅰ期，花被片0.5cm长，花葶尚未抽出		花蕾Ⅱ期，花被片10cm长，花葶刚露一点	初花期，花被片张开，花葶完全抽出	盛花期
雄性器官(♂)	小孢子母细胞阶段，花药壁各层均已分化出来	小孢子母细胞减数分裂，此时，中层退化，绒毡层变为多核的。	形成小孢子四分体。以后，小孢子释放，发育为单核花粉粒，绒毡层已显示出退化迹象	小孢子核进行不均等的有丝分裂，产生二不等的核，即营养核和生殖核。花粉粒内积累多糖粒，形成二细胞成熟雄配子体	花药开裂，成熟花粉粒散出。
雌性器官(♀)	胚珠原基，尚未分化出孢原细胞	分化出孢原细胞并发育大孢子母细胞	大孢子母细胞行减数分裂，珠孔端有一功能大孢子核，合点端三核退化	珠孔端有功能大孢子核进行两次连续的有丝分裂，产生四个子核	四子核之间出现壁，细胞化，形成卵器和中央细胞，各细胞中积累多糖粒十分丰富。此为成熟胚囊阶段

讨 论

1. 一般认为，薄珠心是较进化的特征[10]。在高级的合瓣花类群中常见薄珠心胚珠，没有周缘细胞的存在。在其它较高级的几个科，如伞形科、兰科，也是不存在周缘细胞的。七筋姑具有不产生周缘细胞的薄珠心胚珠，这是一个进化的特征。

2. 被子植物的胚囊发育主要有单孢子、双孢子及四孢子三大类、十余种方式。Maheshwari[10]及Johri[11]曾对各类胚囊之间的演化关系进行了一些讨论。Johri认为：在胚胎发育进化的过程中，进化的趋势主要表现在两个方面。其一是在大孢子发生时，减数分裂后大孢子之间的细胞壁出现次数减少，由两次减为一次，乃至无横壁出

现。在单孢子类型的胚囊发育中，两次分裂都有横壁出现，形成四分体，而四分体中仅有一个大孢子参加胚囊的形成；其余三个退化消失。在双孢子类型的发育中，大孢子母细胞减数分裂Ⅰ完成后，随即产生细胞壁，形成二分体，二分体中仅有一个细胞参与第二次分裂，不形成细胞壁，所形成的两个子核共同参加胚囊的形成。而在四孢子类型的发育中，大孢子母细胞减数分裂完成后不形成细胞壁，四个单倍体核在共同的细胞质中形成多核的大孢子，都参加胚囊的形成。因此，单孢子类型最为原始，四孢子类型最进化。其二表现在雌配子体发生时，有丝分裂次数减少。分裂次数最多的是蓼型胚囊，共三次分裂，而其它类型，只有两次或一次[11]。所以，单孢子的八核胚囊（蓼型）是最原始的。这一类型在被子植物中分布最广，在现已研究过的被子植物中，约有81%的种都具有蓼型胚囊[12]。就胚胎学特征在系统发育上的意义来讲，一般认为占优势的胚胎学特征是代表基本的、原始的，其它变异类型是衍生的、进化的[13]，而且，蕨类植物和裸子植物的雌配子体也是单孢子的[10]。另一个对单孢子八核胚囊的原始性有利的证据是：任何别的类型都可以由它演变出来，而它本身则不能设想是从其它类型演变成的[13]。这样的变化涉及到细胞壁的增加和有丝分裂次数的增加，但维管植物一般的进化趋向是减少，而不是增加。发育过程中的雌配子体珠孔端的核常完成所有的分裂，而向着合点端的一个或多个核可能不分裂，在一些基本的双孢子和四孢子雌配子体中，这种合点端的分裂的退化甚至发展到形成假单孢子胚囊的程度[13]。

七筋姑具高度退化的贝母型胚囊。大孢子母细胞减数分裂完成后形成的四个大孢子核中，合点端三个退化，仅有珠孔端一核为有功能的大孢子核，很象是单孢子类型，故称假单孢子胚囊，这是很进化的特征。

3. 分泌型绒毡层发生于较高级的单子叶植物和大部分的双子叶植物，曾被认为原始的特征，但周原质团绒毡层是比较低等的单子叶植物和一些低等的双子叶植物的特征，并且这种变形的周原质团与某些低等的维管植物的相似。因此，Eames[14]认为周原质团绒毡层为原始的性状，而分泌型绒毡层为进化的特征。

二细胞花粉粒被认为是一种原始的性状。Erewbaker[15]研究过2000多种被子植物，发现约有70%的种具二细胞花粉粒。所有系统发育原始的种均为二细胞型的。他认为三细胞型是由二细胞型演化而产生的。

综上所述，七筋姑具有一些高度进化的胚胎学特征，如薄珠心、高度退化的贝母型胚囊发育，但同时还存在着较原始的性状，如二细胞花粉粒，这说明，进化常不是同步的。但七筋姑仍为一高度特化的类群。

参考文献

1　汪发缵，唐进，陈心启.《中国植物志》.十五卷. 北京：科学出版社，1980：25—26

2　Pakuja A N, Kumar K. Embryo sac development cytology and systematic of Clintonia. *Phytomorph* 1970; **20**(2): 57—102

3　Smith F H. Megagametophyte of Clintonia bor. *Bot Gaz* 1943; **105: 263—267**

4　Johri M M. The style, stigma and pollen. Ⅱ. some taxon of the Liliaceae and Trillaceae. *Phytomorph* 1966; **16**(1): 92—109

5　Takahashi M, Sohma K. Pollen morphology of the genus Clintonia (Liliaceae). *Sci Rep Tohoku*

Univ Fourth ser(Biol.) 1983; **38**(2): 157—164
6 Dahlgren R M T, Clifford H T. The Monocotyledons: A Comparative Study. London Academic Press. 1982
7 Bjornstad L N. Comparative embryology of Asparagoradeae-Polygonateae (Liliaceae). *Nytt Mag Bot* (*Osto*) 1976; **17**(3/4): 169—207
8 郑国锠.《生物显微技术》. 北京: 人民教育出版社, 1983.
9 朱澂. 高碘酸-锡夫反应做为一种染色方法在植物组织学上的应用. 植物学报 1963; **11**:155—164
10 Maheshwari P. An introduction to the embryology of angiosperms. New York: McGraw-Hill Book CO. Inc. 1950
11 Maheshwari P. Recent advances in the embryology of angiosperms. Delhi: Int. Soc. Pl. Morphol. 1963: 63—103
12 Bhojwany S S, Bhatnager S P. The embryology of angiosperms. (3rd. ed.) New Delhi: Vikas Publishing House Prtltd. 1978
13 Palser B F. The bases of angiosperms phylogeny: Embryology *Ann Missouri Bot Gard* 1975; **62:** 621—646
14 Eames A J. Morphology of angiosperms. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc. 1961
15 Brewbaker J L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *Amer Jour Bot* 1967; **59**(9): 1068—1083

图版说明

图版Ⅰ (图 6×440, 其余各图均×440)

1、幼小胚珠纵切, 示一个孢原细胞。2—4、大孢子团细胞阶段, 内、外珠被逐渐分化出来, 胚珠变为倒生。5—8、大孢子母细胞减数第一次分裂中期、末期、减数第二次分裂末期。9、有功能的大孢子及两个退化核。

图版Ⅱ (图 12×600, 图 16×650, 其余各图×440)

10a、b、四孢子胚囊, 四核呈 1+3 排列, 仅有珠孔端一个核为有功能大孢子核。11、示珠孔端二核及合点端一融合了的退化核, 多糖粒的积累清晰可见。12、大孢子第二次有丝分裂中期。13、珠孔端四核。14、成熟胚囊, 示两个助细胞, 一个极核以及胚珠中多糖粒的积累。15a、b、示两个助细胞, 一个极核, 一个卵细胞。16、助细胞的丝状器。

图版Ⅲ (图 24×350, 图 25×400, 其余各图均×440)

17、示花药壁及小孢子母细胞减数第一次分裂的前期。18、减数第一次分裂中期、后期。19、减数第一次分裂末期。20、小孢子四分体被胼胝质壁包在一起。21、释放出的小孢子。22、23 单核小孢子分裂中期、后期、末期。24、成熟的二细胞花粉粒, 会有许多多糖颗粒。25、花柱纵切, 示花粉管中的两个精子。

Explanation of plates

Plate Ⅰ(Fig. 6×500, All others ×440)

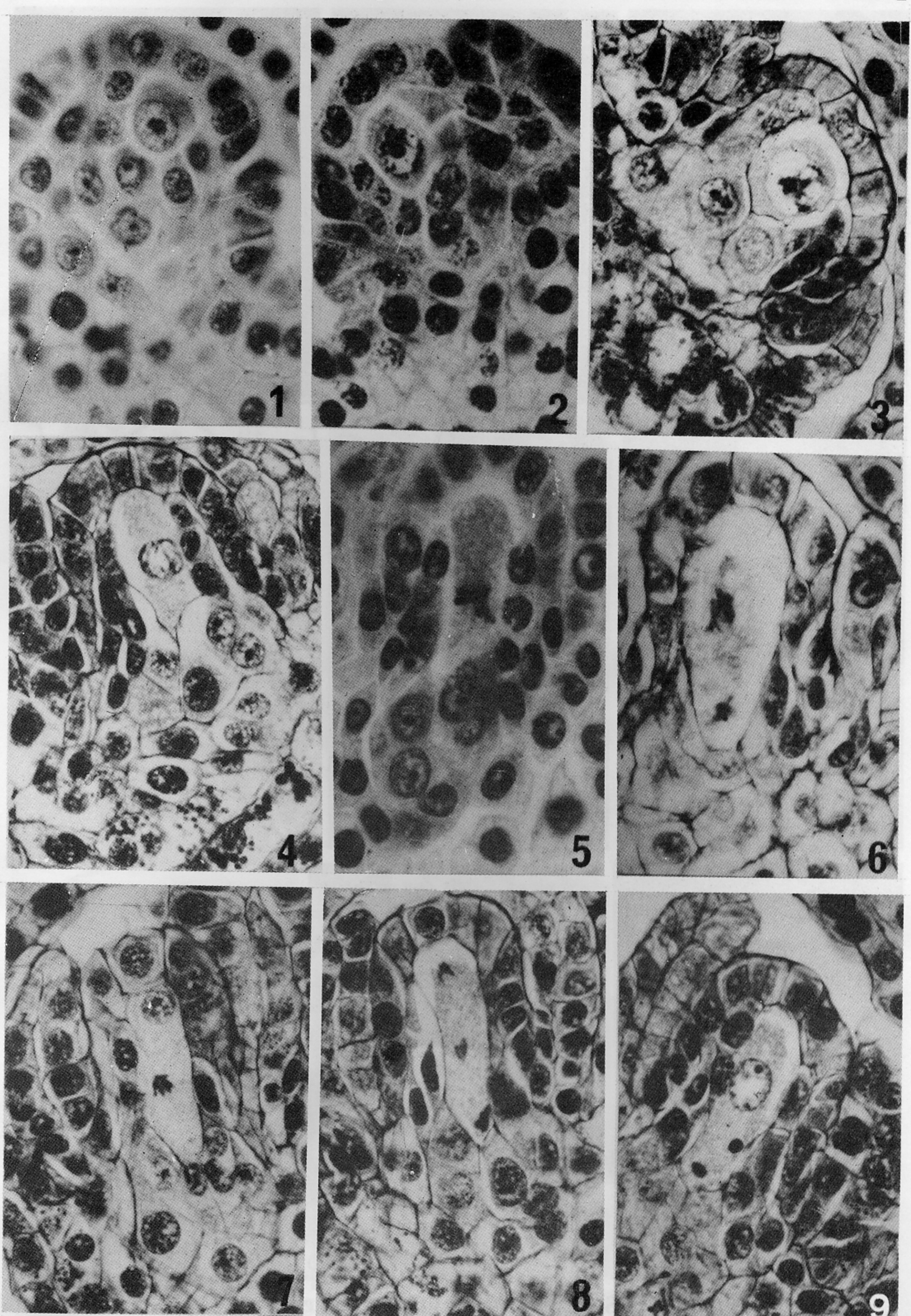
Fig. 1. Longisection of a young ovule, showing an archesporial cell. Figs. 2—4.Megasporocyte stage, the ovule becoming anatropous and differentiating two integuments gradually. Figs. 5—8. Metaphase I, telophase I, telophase II of the meiotic division of the megasporocyte. Fig. 9. The functional megaspore and two abortive nuclei.

Plate Ⅱ(Fig. 12.×600, Fig. 16.×650, others×440)

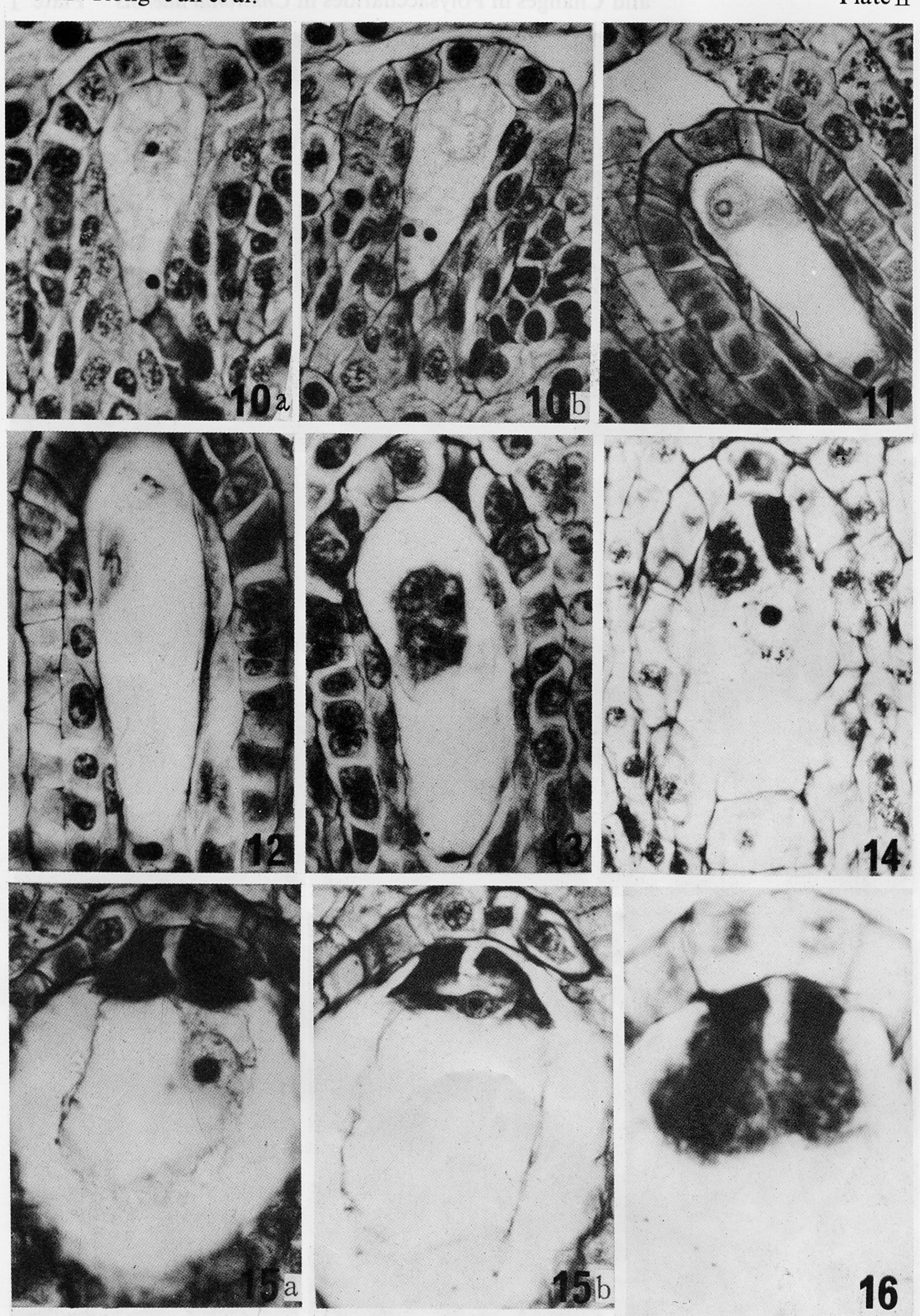
Figs. 10a b. Tetranucleate embryo sac, the four nuclei being 1+3 arrangement. only the micropylar one is functional. Fig. 11. Showing the two micropylar nuclei, one abortive fused nucleus and the accumulation of polysaccharides. Fig. 12. The mitotic metaphase Ⅱ of the megaspore. Fig. 13. The four nuclei in the micropylar end. Fig. 14. The mature embryo sac, showing two synergids, one polar nucleus and the accumulation of polysaccharides in the ovule. Figs. 15a b. Two synergids, one polar nucleus and one egg cell. Fig. 16. The filiform apparatus of the synergids.

Plate Ⅲ(Fig. 24×350, Fig. 25.×400, All others ×440)

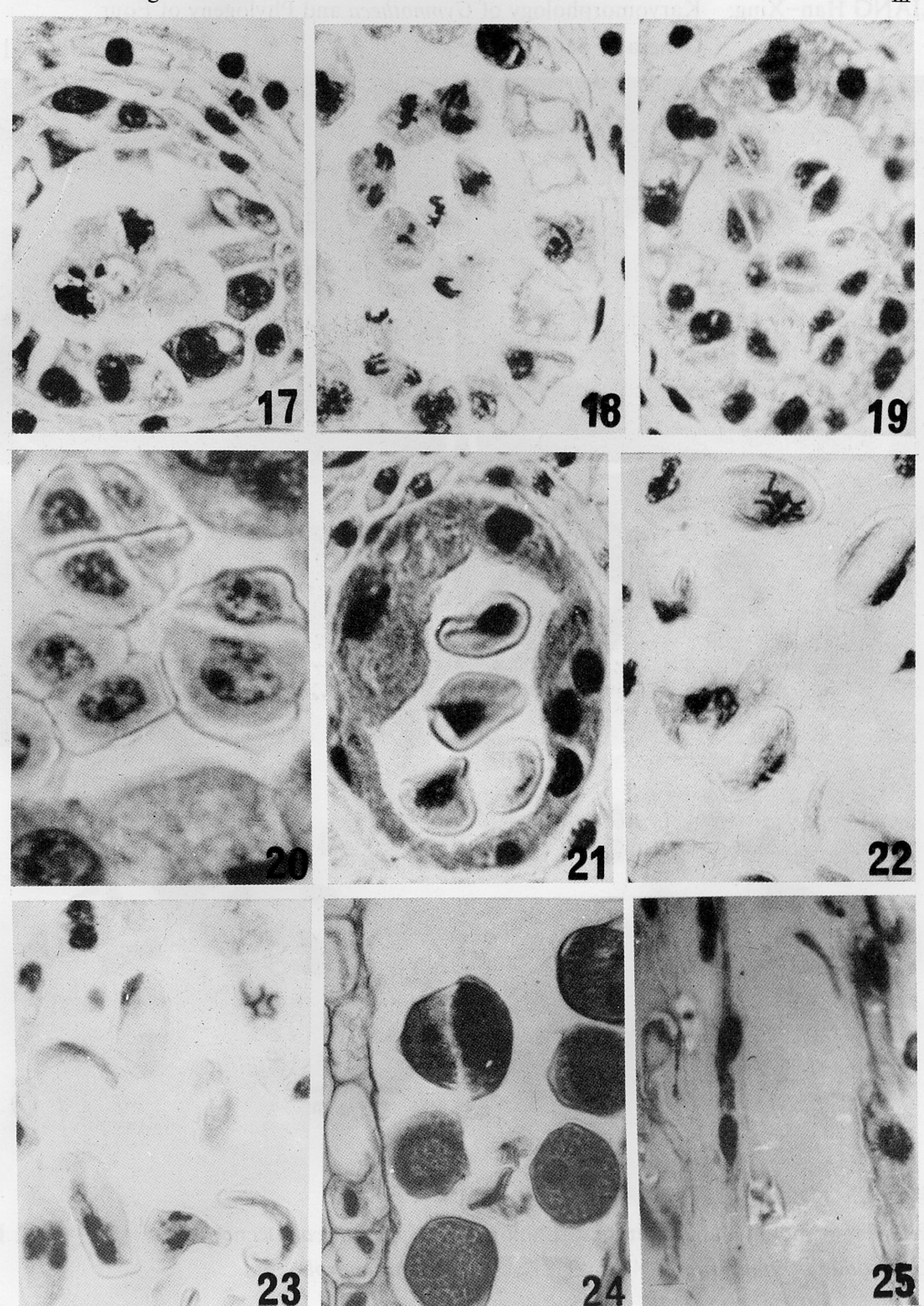
Fig. 17. The anther wall and the meiotic prophase I of the microsporocyte. Fig. 18. The meiotic metaphase I and anaphase I of the microspore mother cells. Fig. 19. The meiotic telophase I of the microsporocyte. Fig. 20. The enclosed tetrads of microspore tegether by callose wall. Fig. 21. Released microspores. Fig. 22. 23. First pollrn mitosis showing metaphase, anaphase , telophase respectively. Fig. 24. Mature two-celled pollen grains, having a lot of polysaccharides. Fig. 25. Longisection of the style, showing two sperms in the pollen tube.



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text